

Zmiany ekspresji potencjałozależnych kanałów K^+ w neuronach*

Bartłomiej Szulczyk, Paweł Szulczyk

Katedra i Zakład Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej
Akademia Medyczna w Warszawie

Streszczenie

Potencjałozależne prądy jonowe K^+ mają decydujący wpływ na aktywność neuronów. Prądy te można podzielić na szybko inaktywujące (typu I_A) oraz na wolno inaktywujące (typu I_K). Właściwości kanałów K^+ często zmieniają się w warunkach patologicznych. Stwierdziliśmy, że po odnerwieniu neuronów gęstość prądów typu I_A rośnie natomiast gęstość prądów typu I_K maleje. Również pozbawienie neuronów ATP i GTP w środowisku wewnątrzkomórkowym (tak jak ma to miejsce w hipoksji) powoduje zwiększenie i zmniejszenie gęstości odpowiednio prądów typu I_A i I_K . Wnioskujemy, że powyższe zmiany właściwości potencjałozależnych kanałów jonowych K^+ prowadzą do zmniejszenia aktywności neuronów i ograniczenia skutków wymienionych patologii.

Wstęp

Potencjałozależne kanały jonowe K^+ powszechnie występują w układzie nerwowym. Są one w spoczynku zamknięte i nieprzewodne dla jonów K^+ . Kanały te otwierają się pod wpływem depolaryzacji błony komórkowej co prowadzi do powstania odkomórkowego (zgodnego z gradientem stężeń dla jonów K^+) prądu jonowego potasowego i hiperpolaryzacji błony komórkowej neuronu. Podstawą klasyfikacji funkcjonalnej prądów jonowych K^+ są ich właściwości kinetyczne i farmakologiczne (Tabela 1). Prądy potasowe płyną przez kanały jonowe – błonowe struktury białkowe. Struktury te posiadają odrębną klasyfikację. Każdy z wymienionych prądów jonowych K^+ (Tabela 1) może powstawać dzięki aktywacji (otworzeniu) pod wpływem depolaryzacji licznych kanałów jonowych o odmiennej strukturze (Tabela 2). Różna struktura białka decyduje o różnej "wrażliwości" białka na wtórne przekąźniki (np. różne

* Praca była finansowana z budżetu Komitetu Badań Naukowych (KBN-0575/P05/2005/28) oraz z budżetu Akademii Medycznej w Warszawie (projekt IMA/W2/2005).

podtypy np. kinaz i fosfataz). W związku z tym komórki nerwowe mogą kontrolować niezależnie przez różne wtórne przekaźniki prądy jonowe o tym samym funkcjonalnym znaczeniu [6].

nazwa prądu	właściwości prądu
prądy I_K (K_{DR})	prądy nieinaktywujące się w czasie depolaryzacji błony komórkowej
prądy I_M	
$K^+_{Ca^{++}}$	prądy K^+ zależne od jonów Ca^{++} i potencjału błonowego
prądy I_{Af}	prądy inaktywujące się w czasie depolaryzacji błony komórkowej
prądy I_{As}	

Tab. 1. Funkcjonalna klasyfikacja kanałów jonowych K^+

nazwa prądu	gen	cytowania
prądy I_K (K_{DR})	Kv2.1, Kv2.2	3
prądy I_M	KCNQ2, KCNQ3	5, 10
$K^+_{Ca^{++}}$	KCNN1, KCNN2 KCNN3, KCNN4	11
prądy I_{Af}	Kv1, Kv4	2
prądy I_{As}		

Tab. 2. Podział funkcjonalny i strukturalny potencjałozależnych kanałów jonowych K^+

Właściwości kinetyczne i funkcja prądów jonowych K^+

Prądy I_K i I_M

Występują 2 typy potencjałozależnych prądów jonowych K^+ , które nie zmniejszają lub nieznacznie zmniejszają swoją amplitudę w czasie długotrwałej ponadprogowej depolaryzacji błony komórkowej (prądy nieinaktywujące się w czasie depolaryzacji). Prądy typu I_K nieznacznie inaktywują się w ciągu

trwającej kilkaset milisekund depolaryzacji. Prądy typu I_M są prawdziwymi prądami nieinaktywującymi. Ich amplituda nie zmienia się w czasie ponadprogowej depolaryzacji trwającej nawet kilka sekund. Próg pobudzenia prądów I_M jest niższy (około -60 mV) niż prądów I_K (około -40 mV). Również gęstość prądów I_M jest niższa niż prądów I_K [1].

Kanały przewodzące prądy I_K są zamknięte przy potencjale błonowym spoczynkowym i otwierają się w czasie depolaryzacji związanej z powstawaniem potencjału czynnościowego. Prądy I_K są odpowiedzialne za fazę repolaryzacji potencjału czynnościowego i być może za pierwszą część hiperpolaryzacji popobudzeniowej.

Prądy I_M pełnią funkcję podobną do prądów I_K . Ponadto, prądy te ze względu na swój bardzo niski próg pobudzenia i brak inaktywacji zależnej od potencjału błonowego i od czasu mogą mieć istotny wpływ na powstawanie potencjału błonowego spoczynkowego. Kanały te są aktywowane między innymi w następstwie aktywacji receptorów metabotropowych muskarynowych co prowadzi do hiperpolaryzacji błony komórkowej [1].

Prądy K^+ zależne od jonów Ca^{++} i potencjału błonowego

Kanały jonowe przewodzące prądy K^+ zależne od jonów Ca^{++} otwierają się w obecności jonów Ca^{++} w środowisku wewnątrzkomórkowym. "Współpracują" one z potencjałozależnymi kanałami jonowymi Ca^{++} .

W czasie depolaryzacji związanej z potencjałem czynnościowym otwierają się wysokoprogowe potencjałozależne kanały jonowe Ca^{++} i dochodzi do wzrostu koncentracji jonów Ca^{++} w środowisku wewnątrzkomórkowym. Jego następstwem jest aktywacja odkomórkowego prądu K^+ zależnego od jonów Ca^{++} i hiperpolaryzacja błony komórkowej (która zwykle nosi nazwę hiperpolaryzacji popobudzeniowej) [6].

Prądy I_{Af} i I_{As}

Podstawową cechą potencjałozależnych prądów potasowych typu I_A jest ich inaktywacja w czasie. Tzn. w czasie trwania długotrwałej ponadprogowej depolaryzacji prądy typu I_A zanikają (inaktywują się) pomimo utrzymującej się depolaryzacji błony komórkowej. Drugą cechą tych prądów jest ich niski próg pobudzenia – często zbliżony do wartości potencjału błonowego spoczynkowego. Ponadto prądy te wykazują silną zależność od potencjału błonowego spoczynkowego – tzn. cechują się tzw. inaktywacją zależną od potencjału błonowego. Zwykle przy potencjale błonowym spoczynkowym prądy te pozostają zinaktywowane. W celu usunięcia inaktywacji zależnej od potencjału błonowego błona komórkowa musi zostać najpierw zhiperpolaryzowana (zwykle na skutek aktywacji kanałów jonowych K^+

zależnych od Ca^{++} , lub w czasie powstawania postsynaptycznych potencjałów hamujących). Po usunięciu inaktywacji, w końcowej fazie hiperpolaryzacji popobudzeniowej gdy potencjał błonowy wraca do wartości potencjału spoczynkowego (błona komórkowa jest depolaryzowana) prądy typu I_A ulegają aktywacji. Taka aktywacja powoduje przedłużenie hiperpolaryzacji popobudzeniowej i zmniejszenie częstotliwości powstawania potencjałów czynnościowych.

Prądy typu I_A dzielimy zwykle na prądy typu I_{Af} i I_{As} . Prądy I_{Af} cechują się szybszą aktywacją i szybszą inaktywacją zależną od czasu niż prądy I_{As} .

W związku z powyższym kanały K^+ zależne od Ca^{++} oraz kanały I_{Af} i I_{As} są podstawowym mechanizmem komórkowym regulującym częstotliwość potencjałów czynnościowych [4,6,8,9].

Zmiany ekspresji kanałów jonowych K^+

W wielu wypadkach w warunkach patologicznych dochodzi do zmiany ekspresji kanałów jonowych i/lub właściwości kinetycznych prądów jonowych. Zmiany te zwykle mają charakter kompensacyjny. Ich celem jest maksymalne zniwelowanie skutków zaburzeń czynnościowych komórki nerwowej.

Zmiana ekspresji kanałów K^+ i ich właściwości kinetycznych pod wpływem odnerwienia neuronów

Zbadano jak wpływa odnerwienie neuronów na właściwości kinetyczne prądów jonowych K^+ w anatomicznie zidentyfikowanych neuronach współczulnych gruczołowych.

W 4 do 6 tygodni po odnerwieniu gęstość prądów jonowych I_{Af} wzrastała z 116.9 ± 8.2 pA/pF do 189.0 ± 11.5 pA/pF. Czas aktywacji tych prądów skracał się z 2.3 do 0.7 ms. Również skracał się czas powrotu z inaktywacji w neuronach zdecentralizowanych w porównaniu do neuronów unerwionych. W neuronach zdecentralizowanych wzrastała gęstość prądów I_{As} z 49.9 ± 3.5 pA/pF do 74.3 ± 5.0 pA/pF, czas aktywacji skracał się z 29 ms do 16 ms. Czas powrotu z inaktywacji prądów I_{As} był również krótszy po odnerwieniu. Gęstość prądów I_K w neuronach zdecentralizowanych w porównaniu do komórek kontrolnych zmniejszała się z 76.6 ± 3.9 pA/pF do 60.7 ± 6.3 pA/pF. Wyniki powyższe wskazują, że efektywność prądów typu I_A znacznie wzrastała a I_K zmniejszała się po decentralizacji. Takie zmiany sugerują, że w neuronach zdecentralizowanych występuje przedłużona hiperpolaryzacja popobudzeniowa wymuszająca ograniczenie aktywności neuronów. Jest to korzystne gdyż w neuronach odnerwionych może występować nadmierna niekontrolowana aktywność ponieważ neurony te otrzymują dodatkowe wejścia synaptyczne [9].

Zmiana ekspresji kanałów K^+ i ich właściwości kinetycznych pod wpływem hipoksji

Celem pracy było zbadanie wpływu usunięcia ze środowiska wewnątrzkomórkowego ATP i GTP (zmiany towarzyszące hipoksji) na właściwości kinetyczne prądów jonowych K^+ w zidentyfikowanych anatomicznie neuronach współczulnych gruczołowych.

Usunięcie ATP i GTP ze środowiska wewnątrzkomórkowego powodowało zwiększenie gęstości prądów jonowych typu I_{Af} (142 pA/pF) w porównaniu do komórek zawierających ATP i GTP (96 pA/pF). Szybkość aktywacji prądów I_{Af} po usunięciu ATP i GTP w środowisku wewnątrzkomórkowym (15.5 nA/ms vs 6.9 nA/ms) była większa niż w obecności ATP i GTP. W neuronach pozbawionych ATP i GTP wzrastała również gęstość prądów typu I_{As} (52 pA/pF vs 37 pA/pF). Z kolei gęstość prądów I_K zmniejszała się w komórkach bez ATP i GTP (17 pA/pF vs 57 pA/pF).

Wnioskujemy, że efektywność prądów I_{Af} oraz I_{As} wzrastała po usunięciu ATP i GTP ze środowiska wewnątrzkomórkowego. Powyżej opisane zmiany sugerują, że po usunięciu ATP i GTP (co ma miejsce w czasie hipoksji) hiperpolaryzacja popobudzeniowa ulega przedłużeniu co prowadzi do zmniejszenia aktywności badanych neuronów i zmniejszenia ich wydatku energetycznego [8].

Wniosek ogólny

Wzrost efektywności działania kanałów jonowych typu I_A i zmniejszenie efektywności kanałów I_K jest mechanizmem uruchamianym przez komórki wówczas gdy jest to korzystne dla ich funkcjonowania w organizmie [7,8,9].

Piśmiennictwo

1. Chen X., Johnston D. (2004) Properties of single voltage-dependent K^+ channels in dendrites of CA1 pyramidal neurones of rat hippocampus. *J. Physiol.* 559: 187 - 203.
2. Malin S.A., Nerbonne J.M. (2001) Molecular heterogeneity of the voltage-gated fast transient outward K^+ current, I_{Af} in mammalian neurons. *J. Neurosci.* 21: 8004-8014.
3. Malin S.A., Nerbonne J.M. (2002) Delayed rectifier K^+ currents, I_K , are encoded by Kv2 α -subunits and regulate tonic firing in mammalian sympathetic neurons. *J. Neurosci.* 22: 10094-10105.

4. Rola R., Witkowski G., Szulczyk P. (2003) Voltage-dependent K^+ currents in rat cardiac dorsal root ganglion neurons. *Neuroscience* 119(1): 181-191.
5. Selyanko A.A., Hadley J.K., Wood I.C., Abogadie F.C., Delmas P., Buckley N.J., London B., Brown D.A. (1999) Two types of K^+ channel subunit, Erg1 and KCNQ2/3, contribute to the M-Like current in a mammalian neuronal cell. *J. Neurosci.* 19: 7742 - 7756.
6. Szulczyk P. (2005) Metody badania błonowych potencjałozależnych kanałów (prądów) jonowych Na, Ca i K i ich zastosowanie w analizie funkcji układu nerwowego. *Tom I. Biosystemy(*)*, red. tomu: Doroszewski J., Tarnecki R., Zmysłowski W. Akademicka Oficyna Wydawnicza Exit s. 1-44.
7. Szulczyk B., Mierzejewski P., Kukula K., Stefański R., Szulczyk P., Kostowski W. Effects of response-contingent and response-noncontingent cocaine on kinetic properties of voltage-gated K^+ currents in rat prefrontal cortex pyramidal neurons – wysłane do druku.
8. Szulczyk B., Rola R., Witkowski G., Szulczyk P. (2005) Effects of ATP and GTP on voltage-gated K^+ currents in glandular and muscular sympathetic neurons. *Brain Res.* <http://www.sciencedirect.com/science>
9. Szulczyk B., Szulczyk P. (2003) Postdecentralization plasticity of voltage-gated K^+ currents in glandular sympathetic neurons in rats. *Eur. J. Neurosci.* 18(1): 43-52.
10. Wang H.S., McKinnon D. (1995) Potassium currents in rat prevertebral and paravertebral sympathetic neurones: control of firing properties. *J. Physiol.* 485: 319 - 335.
11. Wei A.D., Gutman G.A., Aldrich R., Chandy K.G., Grissmer S., Wulff H. (2005) International union of pharmacology. LII. Nomenclature and molecular relationships of calcium-activated potassium channels. *Pharmacol. Rev.* 57: 463-472.

Adres do korespondencji:

Bartłomiej Szulczyk

Akademia Medyczna w Warszawie

Katedra i Zakład Fizjologii Doświadczalnej i Klinicznej

Krakowskie Przedmieście 26/28

00-927 Warszawa

Tel: (48 22) 826 42 75

e-mail: bszulczy@amwaw.edu.pl